

Travail des Laboratoires de Chimie Biologique et Médicale
de la Faculté de Médecine
et du Centre de Recherches Anticancéreux de Montpellier
(Professeur P. CRISTOL)

Sur les lipides totaux et les phospholipides des tumeurs

THÈSE

Présentée et publiquement soutenue devant la Faculté de Médecine
de Montpellier

le 2 Décembre 1939

par

PIERRE LAZERGES

Ex-boursier de Recherches au Laboratoire de Chimie

Chef de laboratoire à la Faculté de Médecine

Lauréat de la Faculté

Prix Swiecicki 1938

né le 5 mars 1910 à Arles (B.-du-Rhône)

POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR EN MÉDECINE

**EXAMINATEURS
DE LA THÈSE**

MM. CRISTOL, Prof., *Président.*
P. LAMARQUE, Prof.
LAUX, prof.
P. MONNIER, agr.

} *Assesseurs.*

MONTPELLIER
IMPRIMERIE DE LA CHARITÉ
(PIERRE-ROUGE)

1939

**Sur les lipides totaux
et les phospholipides des tumeurs**



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Travail des Laboratoires de Chimie Biologique et Médicale
de la Faculté de Médecine
et du Centre de Recherches Anticancéreux de Montpellier
(Professeur P. CRISTOL)

Sur les lipides totaux et les phospholipides des tumeurs

THÈSE

Présentée et publiquement soutenue devant la Faculté de Médecine
de Montpellier

le 2 Décembre 1939

par

PIERRE LAZERGES

Ex-boursier de Recherches au Laboratoire de Chimie
Chef de laboratoire à la Faculté de Médecine
Lauréat de la Faculté
Prix Swiecicki 1938

né le 5 mars 1910 à Arles (B.-du-Rhône)

POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR EN MÉDECINE

**EXAMINATEURS
DE LA THÈSE**

MM. CRISTOL, Prof., *Président.*
P. LAMARQUE, Prof.
LAUX, prof.
P. MONNIER, agr.

Assesseurs.

MONTPELLIER
IMPRIMERIE DE LA CHARITÉ
(PIERRE-ROUGE)

1939

PERSONNEL DE LA FACULTÉ

Professeurs

Anatomie	MM. J. DELMAS
Histologie	TURCHINI.
Physiologie	L. HÉDON
Chimie biologique et médicale et toxicologie.....	CRISTOL.
Physique médicale	PECH.
Anatomie pathologique et médecine expérimentale.....	BAUMEL.
Microbiologie.....	LISBONNE.
Pathologie et thérapeutique générales	PAGÈS.
Thérapeutique et matière médicale	JANBON.
Hydrologie thérapeutique et climatologie	PUECH.
Hygiène	CARRIEU.
Médecine légale et médecine sociale	VIDAL.
Pathologie médicale et clinique propédeutique	SOULET.
Clinique médicale	GIRAUD.
	RIMBAUD.
Clinique chirurgicale.....	MASSABUAU, assesseur
	RICHE.
Clinique obstétricale	P. DELMAS.
Clinique des maladies mentales et nerveuses	EUZIÈRE, <i>doyen</i>
Clinique des maladies des enfants et hygiène du premier âge.....	BOUDET.
Clinique de dermatosyphiligraphie.....	MARGAROT.
Clinique chirurgicale infantile et orthopédie	ETIENNE.
Clinique des maladies des voies urinaires	JEANBRAU.
Clinique gynécologique	LAPEYRE.
Clinique ophtalmologique	DEJEAN
Clinique d'oto-rhino-laryngologie.....	TERRACOL.
Radiologie (ch. de c.).....	LAMARQUE.
Anatomie (ch. de c.).....	LAUX.
Histologie (ch. de c.)	GRANEL.
Propédeutique chirurgicale (ch. de c.).....	AIMES.

Honorariat

Professeurs honoraires :

MM. RODET, TÊDENAT, FORGUE, ESTOR
BERTIN-SANS GALAVIELLE, BOSCH, VIRES, VILLARD, CABANNES.
GRYNFELT.

Chargés de cours complémentaires

Pathologie externe	MOURGUE-MOLINES
Médecine opératoire	ROUX, agrégé.
Chirurgie expérimentale	GUIBAL, agrégé.
Accouchements	CADÉRAS DE KERLEAU
	agrégé
Clinique phthisiologique.....	VIDAL, prof.
Pathologie médicale et clinique propédeutique médicale.	N...
Clinique propédeutique médicale.....	P. RIMBAUD, agrégé,
Clinique des maladies contagieuses	JANBON, prof.
Stomatologie.....	D ^r FERRIER, ch. de c
Histoire naturelle médicale	HARANT, agrégé.

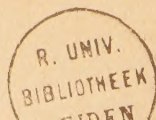
Agrégés en exercice

Medecine. MM. P. RIMBAUD.	Chirurgie.....	MM. MOURGUE-MOLINES
BOUCOMONT.		GUIBAL.
BERT		ROUX.
		TRUC.
Urologie, TRUC.	Chimie.....	MONNIER.
	Bactériologie.....	CARRÈRE.
	Parasitologie	HARANT.
	Obstétrique	CADÉRAS DE KERLEAU

Examineurs de la thèse

MM. P. CRISTOL, Prof., *Prés.* | MM. LAUX, prof
P. LAMARQUE, professeur. | P. MONNIER, agrégé.

La Faculté de Médecine de Montpellier déclare que les opinions émises dans les dissertations qui lui sont présentées doivent être considérées comme propres à leur auteur et qu'elle n'entend leur donner ni approbation ni improbation.



A LA MÉMOIRE DE MON PÈRE

A MA MÈRE

Faible hommage de ma grande reconnaissance pour les sacrifices qu'elle s'est imposée.

A NOTRE MAÎTRE

MONSIEUR LE PROFESSEUR P. CRISTOL

Professeur de Chimie biologique médicale et de Toxicologie
à la Faculté de Médecine de Montpellier.

*En témoignage de notre vive gratitude
et de notre profond attachement.*

A MONSIEUR LE PROFESSEUR LAMARQUE

Directeur du Centre Anti-Cancéreux de l'Université de Montpellier,
Chef de Service de la Clinique Curie.

A MONSIEUR LE PROFESSEUR LAUX

A MONSIEUR LE PROFESSEUR AGRÉGÉ P. MONNIER

*qui a guidé nos premiers pas dans
la recherche.*

Hommage reconnaissant et fidèle.

SUR LES LIPIDES TOTAUX ET LES PHOSPHOLIPIDES DES TUMEURS

INTRODUCTION

Si l'application des méthodes chimiques à l'étude du cancer ne remonte guère au début de ce siècle, les acquisitions dans ce domaine ont été néanmoins à la fois très nombreuses et très importantes.

Certains faits sont déjà nettement établis, mais la chimie organique semble avoir laissé le pas à la chimie minérale, tout au moins au début des recherches.

Si l'analyse chimique de tout tissu est chose complexe, l'étude des corps organiques dans les tumeurs offre des difficultés encore plus grandes que celle des corps inorganiques, car elle exige un matériel particulièrement frais et exempt de tout processus d'autolyse. Cependant de nombreuses recherches se sont adressées aux substances protéiques ou aux substances glucidiques ; pour les lipides, seul le cholestérol, durant de nombreuses années, a retenu l'attention des chercheurs, et le métabolisme des phosphatides est encore mal connu dans le métabolisme des tissus cancéreux.

L'étude du phosphore lipidique dans les tumeurs revêt pourtant une importance considérable. On connaît le rôle capital qui doit être en effet accordé aux lipides dans le développement et l'évolution des tissus ; or, les acides gras, pour être catabolisés, doivent entrer dans des combinaisons phosphorées du type lécithine et l'étude parallèle des phospholipides et de l'activité proliférative des tissus tumoraux nous a semblé, dès lors, du plus haut intérêt.

Nous avons donc entrepris l'étude des lipides et des phospholipides dans les tumeurs. Ce travail a été réalisé dans les laboratoires de notre Maître Monsieur le Professeur CRISTOL, qui n'a cessé, depuis le jour où il nous y a reçu, de nous entourer d'une très bienveillante sollicitude. Il nous a fait l'honneur de nous accepter comme Chef de Laboratoire et nous avons, en toutes circonstances, pu apprécier son inépuisable bonté. Qu'il nous soit permis, avant l'exposé de ces quelques recherches qu'il nous a inspirées et qui n'ont fait que vérifier ses prévisions éclairées, de lui témoigner notre profonde gratitude et notre très respectueuse affection.

Nous adressons nos remerciements à Monsieur le Professeur P. LAMARQUE et à Monsieur le Professeur J. LAUX, qui ont bien voulu nous faire l'honneur de juger ce travail.

Nous avons toujours trouvé en Monsieur le Professeur Agrégé MONNIER un guide bienveillant dont l'ardeur pour la recherche scientifique a été pour nous un exemple continu et inoubliable. Il n'a jamais cessé de nous témoigner toute sa sympathie et il nous est doux de l'assurer aujourd'hui de notre amitié reconnaissante et fidèle.

Que Monsieur le Docteur GUIBERT, Chef de Laboratoire d'Anatomie pathologique à la Faculté de Médecine, qui n'a jamais cessé de s'intéresser à nos recherches, trouve ici l'expression de nos sentiments reconnaissants.

TRAVAUX ANTÉRIEURS

La constitution lipidique des tissus cancéreux a fait l'objet de nombreux travaux, ils n'ont été le plus souvent que fragmentaires ; le cholestérol, longtemps considéré comme le témoin du métabolisme lipidique, a retenu, à ce titre, plus particulièrement l'attention des chercheurs.

* * *

En 1922, YAMAKAWA et KASHIWABARA (28) constataient qu'il existe dans les tumeurs une grande quantité de cholestérol libre et presque autant d'esters cholestériniques.

A la suite d'une série de recherches échelonnées de 1917 à 1926, RORFO (22) a énoncé les conclusions suivantes :

1^o Le tissu néoplasique présente toujours un taux de cholestérol au-dessus de 3 g. p. 1.000 de matière sèche. Ce chiffre peut même s'élever pour quelques tumeurs à 9 ou 10 g. p. 1.000. On décèle même au microscope, dans un cas de carcinome typique à cellules claires, l'existence de cristaux de cholestérol.

2^o La comparaison entre le tissu tumoral et les tissus totaux d'un animal montre que le premier renferme trois fois plus de cholestérol.

3^o La teneur en cholestérol des tissus néoplasiques en pleine évolution d'une part et des lésions de la peau pouvant être considérées comme précancéreuses d'autre part, est supérieure à celle des tissus sains.

En 1928, BURGHEIM (2) devait confirmer ces données.

Récemment nous avons pu noter (P. CRISTOL, P. MONNIER et P. LAZERGES) (8) la fixité remarquable des taux du cholestérol dans les tumeurs de FLEXNER-JOBLING ; la moyenne obtenue pour nos analyses était de 0,25 p. 100 de poids frais, les écarts étant de 0,042 p. 100 en plus ou en moins.

Cette constatation est intéressante ; il ressort en effet des travaux de CHAUFFARD, Guy LAROCHE et GRIGAUT, sur le cholestérol chez le fœtus aux différents stades de son évolution, que pour le foie et le rein la teneur en ce corps reste à peu près fixe au voisinage de 0,25 p. 100. D'après ces mêmes auteurs, le taux du cholestérol dans le placenta reste aux environs de 0,25 p. 100 durant toute la grossesse. Ces faits permettent donc une fois de plus un rapprochement entre les tissus cancéreux et les tissus embryonnaires.

*
* *
*

A côté du cholestérol dont nous venons de noter toute l'importance dans le tissu tumoral, il y a lieu aussi de considérer les acides gras. En effet, dans la constitution moléculaire des lipides, les acides gras représentent la partie la plus importante. Les lipides renferment en moyenne 90 p. 100 d'acides gras.

Leur présence dans les tumeurs bénignes et malignes a été signalée depuis déjà un certain temps.

En 1922, GOLDMANN (13) constata morphologiquement, au moyen de colorations vitales, le peu d'abondance des acides gras au niveau des tumeurs conjonctives et en particulier du sarcome. Dans les éléments d'un chondrome, il mit en évidence de nombreuses gouttelettes d'acides gras.

La même année HAGA (14) vérifia chimiquement les conceptions morphologiques de GOLDMANN. Il constata la présence d'acides gras et de phospholipides dans 44 tumeurs épithéliales sur 113 examinées. Parmi celles-ci, 20,5 p. 100 contenaient des acides gras, et 11,4 p. 100 des phospholipides.

Pour A. ROBIN (1912) (21), la teneur en acide gras du foie cancéreux est sensiblement augmentée, par rapport à celle du foie normal.

Après avoir analysé des tumeurs de FLEXNER-JOBLING (P. CRISTOL, P. MONNIER et P. LAZERGES) (8), nous avons constaté que les lipides totaux, l'insaponifiable total et l'insaponifiable X ainsi que les acides gras totaux, sont plus élevés :

a) dans les tumeurs dont l'évolution est arrêtée, que dans les tumeurs en pleine activité proliférative ;

b) dans les tumeurs en pleine activité proliférative, que dans les tumeurs nettement nécrosées.

* * *

Cependant, dès 1913, à la suite des travaux de MAEYER et SCHAEFFER (16), on considérait que ce ne sont point surtout les teneurs en cholestérol et en acides gras qui importent dans une tumeur que le coefficient lipocytyque, qui n'est autre que

le rapport $\frac{\text{cholestérol}}{\text{acides gras totaux}}$ une relation importante existant entre ce rapport et l'hydratation des tissus : plus le rapport lipocytyque est élevé, plus la teneur en eau est grande.

Pour ROFFO (1925), il existerait un rapport certain entre le coefficient lipocytyque du foie et le développement des tumeurs. Alors que normalement ce coefficient est de 7,41 p. 100, il s'élève à 10,82 pour les organes de l'animal cancéreux, et atteint 27,40 p. 100 dans la tumeur elle-même. Les variations de ce rapport dépendent de la teneur en cholestérol des organes ; son augmentation dans les tissus tumoraux relève non seulement de la teneur élevée en cholestérol, mais aussi de la diminution du taux des acides gras.

Dans la glande mammaire en particulier, ROFFO et CORRÉA (1929) observent en même temps qu'une hypercholestérinie, une diminution des acides gras. Dans certains cas, le rapport lipocytyque peut être 10 fois plus élevé (13,8 p. 100) dans les tumeurs que dans les graisses normales (1,84 p. 100).

Nous avons enregistré (P. CRISTOL, P. MONNIER et P. LAZERGES) des résultats semblables (9) lors de l'analyse des tumeurs expérimentales. Les coefficients lipocytyques ont oscillé pour 7 analyses entre 7,37 p. 100 et 23,8 p. 100.

* * *

Ces quelques rappels permettent de se rendre compte de l'importance des recherches qui ont été faites sur le cholestérol et les acides gras dans les tumeurs. Les travaux qui ont été consacrés à l'étude des phospholipides sont au contraire rares.

Cependant, M. et Mme EENSELME (II) ont pu noter : une augmentation du phosphore lipidique dans les tumeurs, augmentation qui serait, ainsi que le montrent leurs résultats, beaucoup plus importante pour les tumeurs malignes que pour les tumeurs bénignes.

TABLEAU I

Le phosphore lipidique dans les tumeurs.

		mg. pour 100 g. de substance fraîche	
Organe normal : Sein		21	
Tumeurs bénignes	Utérus : fibrome ...	28	} moyenne : 25 mg. pour 100 g. de substance fraîche.
	Sein : adéno-fibrome	25	
	— — —	23	
Tumeurs malignes	Sein : épithélioma .	32	} moyenne : 35 mg. pour 100 g. de substance fraîche.
	— — —	34	
	— — —	30	
	— — —	37	
	— — —	43	

(d'après M. et Mme EENSELME.)

Mais les comparaisons qui ont été faites dans ces expériences, entre les tissus lésés et les tissus sains, nous paraissent sans grande valeur, les résultats ayant été obtenus à partir de tissus prélevés chez deux sujets différents. Nous retiendrons seulement ce fait, et n'insisterons pas davantage sur les critiques à formuler sur ces recherches, comptant y revenir (1) par la suite.

(1) Voir chapitre IV, p. 43.

CHAPITRE PREMIER

I. — Objet et plan du travail.

L'ensemble des recherches que nous allons exposer nous a permis de déterminer dans les tumeurs, outre la teneur en eau, les lipides totaux et leur indice d'iode, les taux du phosphore lipidique (ce qui nous a permis de calculer les phospholipides) et du phosphore hydrosoluble.

Nos expériences ont porté sur des tumeurs expérimentales et sur des tumeurs humaines.

Nous avons en effet tout d'abord analysé des cancers expérimentaux de Flexner-Jobling. De telles tumeurs (toute réserve faite sur leur identité histologique avec les tumeurs spontanées), obtenues par greffes d'une même souche primitive à des rats d'un même élevage, réalisent des lésions schématiques connues d'avance parfaitement comparables entre elles, offrent à l'analyse chimique un élément d'où sont éliminées toutes les inconnues et où le métabolisme lipidique dans le développement des tumeurs peut être étudié dans des conditions précises.

Mais si ces tumeurs expérimentales ont fourni aux chercheurs des documents du plus haut intérêt, relatifs au problème du cancer, il n'en reste pas moins vrai qu'une étude, qui aurait seulement celles-ci pour objet, serait incomplète et entachée à sa base d'une erreur fondamentale. Comme l'a fait remarquer G. ROUSSY (25), en effet, « un rat inoculé par la tumeur d'un autre animal ne fait que servir d'hôte, de moyen de culture au

développement de cette tumeur d'origine hétérogène. En cela, le processus se rapproche, du point de vue général, de celui des greffes de tissus et s'écarte du phénomène de la cancérisation dans lequel la tumeur naît aux dépens des cellules du sujet devenu cancéreux. »

Nous avons donc continué nos expériences par l'analyse des tumeurs humaines ; de tels tissus sont éminemment divers, et leurs métabolismes doivent varier non seulement d'après les caractères bénins ou malins du néoplasme et d'après sa nature histologique, mais encore d'après sa constitution anatomique, son siège, les différentes périodes de son évolution, l'organe ou le tissu dans lequel il se développe et les conditions générales du sujet qui en est atteint, de telle sorte que l'étude chimique des tumeurs spontanées exige des données histologiques et cliniques précises à la lumière desquelles seulement une interprétation des résultats peut être correcte. Un examen histopathologique a donc été pratiqué pour chaque pièce analysée, les renseignements cliniques ont été recueillis lorsqu'il nous a été possible de le faire et nous avons tenu compte dans nos conclusions de ces divers résultats.

D'autre part, en considérant les diverses causes d'erreurs qui ont pu apparaître dans des travaux antérieurs, notre étude, pour être correcte, nous a paru devoir être faite par des analyses comparatives de différentes parties d'une même tumeur, lorsque celle-ci présente des zones d'aspect microscopique différent, de même que par des analyses comparatives du tissu lésé et du tissu sain.

Tel est le sens général des recherches que nous avons effectuées et dont nous exposerons les résultats dans l'ordre suivant :

— Dans une première partie nous signalerons les résultats obtenus pour les tumeurs analysées, puis, nous comparerons ces résultats entre eux.

— Nous comparerons ensuite les différentes parties d'une même tumeur d'aspect histologique divers.

— Enfin nous terminerons par la comparaison entre le tissu sain et le tissu néoplasique au dépens duquel s'est développée la tumeur.

* *

Nous croyons cependant utile de rappeler brièvement tout d'abord les méthodes d'analyse utilisées, la plupart d'entre elles ayant été déjà décrites dans différents mémoires.

II. — Techniques et méthodes.

La pièce à analyser est recueillie au moment même de l'exérèse (1) de la tumeur et transportée immédiatement au laboratoire. Les divers prélèvements (partie saine, partie néoplasique active ou en voie de nécrose) ont été effectués par M. le docteur GUIBERT, chef de laboratoire à la Faculté de Médecine. Les fragments prélevés, après avoir été pesés, sont découpés en petits morceaux et plongés dans un flacon rempli d'alcool bouillant. Le poids d'alcool à 96° employé est au moins égal à quatre fois le poids du tissu soumis à l'analyse. Cette opération évite l'autolyse et permet ainsi de conserver pendant un certain temps ces prélèvements.

1) LIPIDES TOTAUX.

Après 24 heures au minimum de séjour dans l'alcool à 96°, chaque fragment d'organe est découpé en fins morceaux, introduit quantitativement dans une cartouche de cellulose dégraissée et extrait dans un Kumagawa durant 8 heures par l'alcool bouillant. L'alcool ayant servi à conserver la substance ainsi que les alcools de lavage du flacon et des instruments et capsules ayant été utilisés pour la découper, sont filtrés à l'aide de la cartouche et joints à l'alcool d'extraction.

L'extrait alcoolique est évaporé dans le vide. Le résidu de cette évaporation est repris par 10 cm³ de benzène anhydre

(1) Les rats porteurs des tumeurs de FLEXNER-JOBLING ont été rapidement tués par asphyxie chloroformique ; la tumeur a été immédiatement prélevée dans sa totalité.

conservé sur filament de sodium, ceci à trois reprises. Les solutions benzéniques sont réunies quantitativement et centrifugées pour éliminer les constituants insolubles dans ce solvant, mais solubles dans l'alcool. On évapore jusqu'à poids constant, dans une étuve électrique réglée à 50°, l'extrait benzénique ainsi obtenu. Par pesée avec une balance de précision sensible au 1/100 de milligramme, on obtient les lipides totaux.

Les lipides totaux secs sont mis quantitativement en solution chloroformique. Sur cette solution chloroformique nous avons déterminé :

a) *l'indice d'iode*,

b) *le phosphore lipidique* (les phospho-lipides ont été obtenus en multipliant par le coefficient 25 le taux du phosphore lipidique trouvé).

2) SUBSTANCE HYDROSOLUBLE.

L'extrait alcoolique non soluble dans le benzène, qui se trouve dans le tube à centrifugation, est repris par l'eau, puis évaporé jusqu'à poids constant. Par pesée on obtient le poids de la substance hydrosoluble.

La substance hydrosoluble sèche est remise en solution ; sur celle-ci nous avons déterminé :

c) *le phosphore hydrosoluble*.

3) SUBSTANCE SÈCHE DÉGRAISSÉE.

La substance dégraissée restant dans la cartouche est séchée à 100° jusqu'à poids constant et pesée avec une balance de précision. (Elle est mise d'autre part dans un tube scellé pour des recherches ultérieures.)

4) TENEUR EN EAU.

En additionnant le poids des lipides, de la substance hydrosoluble et de la substance sèche dégraissée, on a l'extrait sec total, d'où l'on peut déduire la teneur en eau pour cent de poids frais.

5) INDICE D'IODE.

Sur une portion aliquote de solution chloroformique contenant environ 5 milligrammes de lipides, nous avons déterminé l'indice d'iode par la méthode de ROSENMUND et KUHNEHN (24) (micro-technique de YASUDA) (29).

La détermination de l'indice d'iode doit s'effectuer dès que les lipides totaux ont été mis en solution chloroformique, ou le plus tôt possible sur cette solution conservée à l'abri de la lumière, solaire. P. CRISTOL et P. MONNIER ont, en effet, montré que si l'on expose à la lumière solaire une solution chloroformique de lipides totaux, l'indice d'iode diminue graduellement; au contraire, celui-ci reste constant si la solution est gardée dans l'obscurité (4).

a) Technique.

La quantité de solution chloroformique contenant environ 5 milligrammes de lipides, est introduite dans une fiole conique que l'on plonge dans la glace, tandis que l'on ajoute 2 cm³ d'une solution de dibromopyridine 0,05 N.

Après 15 minutes de contact à la température du laboratoire, on ajoute 0,5 cm³ de solution d'iodure de potassium à 10 p. 100, et l'on titre l'iode libéré au moyen d'une solution titrée de thio-sulfate 0,02 N, soit n cm³.

Un essai-témoin mené parallèlement avec la même quantité de dibromopyridine donne N cm³.

L'indice d'iode est donné par la formule :

$$\frac{254 (N - n)}{p}$$

dans laquelle N et n sont exprimés en centimètres cubes et p représente le poids de lipides contenu dans la fiole et est exprimé en milligrammes.

b) *Préparation de la solution de dibromopyridine :*

On prépare les deux solutions suivantes :

A	{	Pyridine purifiée	16 g. (16,5 cm ³)
	{	Acide acétique glacial	40 cm ³
B	{	Acide sulfurique concentré pur ...	20 g. (10,9 cm ³)
	{	Acide acétique glacial	40 cm ³

On mélange les deux solutions en versant la solution B dans la solution A plongée dans de la glace, et quand la combinaison est faite on ajoute le mélange :

C	{	Brome.....	16 g. (5 cm ³)
	{	Acide acétique glacial	40 cm ³

En portant à quatre litres avec l'acide acétique glacial, on a une solution sensiblement 0,05 N que l'on titre au moment de l'emploi.

6) PHOSPHORE LIPIDIQUE.

Une portion de solution chloroformique contenant environ 10 milligrammes de lipides est évaporée au bain-marie et le phosphore dosé par la technique de M^{me} SOERENSEN et MACHE-BOEUF (15), modifiée par FLATTER (12).

a) *Principe.* — Le principe résumé de la méthode est le suivant :

- α) Minéralisation sulfo-nitrique de la substance à analyser,
- β) Précipitation du phosphore à l'état de phosphomolybdate d'ammonium,
- γ) Dissolution du précipité dans un excès de soude titrée, que l'on dose en retour.

La modification apportée par FLATTER consiste dans le remplacement du filtre d'amiante par un micro-filtre en verre aggloméré.

b) *Technique.* — Dans un matras de KJELDAHL contenant la portion de solution chloroformique évaporée au bain-marie, on

ajoute très exactement $1,3 \text{ cm}^3$ d'acide sulfurique et l'on chauffe jusqu'à ce que le charbon, boursoufflé au début, tombe en de fines particules et se rassemble au fond du matras. On laisse refroidir, puis l'on ajoute de l'acide nitrique fumant par petites quantités en chauffant chaque fois jusqu'à élimination des vapeurs rutilantes. Le liquide s'éclaircit peu à peu pour devenir finalement incolore quand l'acide est complètement chassé.

On ajoute alors une quantité d'eau de 6 cm^3 et 2 cm^3 5 d'une solution saturée de n'trate d'ammonium. On porte au bain-marie bouillant pendant un quart d'heure, puis l'on précipite par 6 cm^3 de molybdate d'ammonium à 5 p. 100, tout en continuant à chauffer le mélange pendant un quart d'heure.

Le précipité de phosphomolybdate est séparé immédiatement de ses eaux-mères par filtration sur microfiltre en verre aggloméré ; il est lavé à l'alcool à 96° à cinq reprises par décantation et siphonage.

Le précipité de phosphomolybdate est ensuite dissout dans 3 cm^3 d'ammoniaque dilué au quart et la solution est quantitativement recueillie dans une fiole d'Erlenmeyer qui est portée à l'ébullition pendant vingt minutes après y avoir ajouté 25 cm^3 de soude $0,04 \text{ N}$. On verse alors dans ce liquide alcalin 25 cm^3 d'acide sulfurique $0,04 \text{ N}$ et après une ébullition de 2 à 3 minutes l'excès d'acide est dosé au moyen d'une solution de soude $0,04 \text{ N}$. Le nombre de centimètres cubes multiplié par $0,044$ donne en milligrammes la teneur en phosphore de la prise d'essai.

7) PHOSPHORE HYDRO-SOLUBLE.

Le phosphore hydro-soluble a été dosé par la technique que nous venons de décrire pour le phosphore lipidique.

8) EXTRACTION ET PURIFICATION DES PHOSPHOLIPIDES.

Des lipides de certaines tumeurs nous avons extrait les phospholipides. Les lipides totaux sont alors dissous dans 10 cm^3 d'éther anhydre et les phospholipides précipités par 80 cm^3 d'acétone pure et séché après adjonction de 1 cm^3 d'une solution

alcoolique saturée de chlorure de magnésium. Ce précipité, après avoir été lavé, est à nouveau dissous dans l'éther absolu, puis reprécipité dans les mêmes conditions. On émulsionne les phospholipides ainsi obtenus à l'aide d'une solution de chlorure de sodium à 1 p. 100 ; on les agite ensuite fortement à quatre reprises avec 20 cm³ d'éther anhydre. Ces solutions éthérées sont réunies quantitativement, lavées à l'aide d'eau salée acétonique et évaporées dans une étuve à 50°. Par pesée on détermine la quantité de phospholipides contenue dans les lipides totaux.

III. — Justification des méthodes.

Pour justifier les méthodes que nous avons employées, P. MONNIER (18) a effectué des dosages sur deux portions identiques d'une pièce d'organe aussi homogène que possible ; ses résultats sont réunis dans le tableau II. Les écarts observés sont pour tous les composés déterminés inférieurs à 1,5 p. 100, ces techniques ont donc une approximation satisfaisante pour permettre nos recherches.

TABLEAU II

	1 ^{re} prise	2 ^e prise	Ecart relatif pour 100.
Poids frais (g.)	2,6042	2,3072	
Poids sec (g.)	0,7457	0,3391	
Eau pour 100	71,3	72,3	1,4
Lipides totaux	6,51	6,42	1,3
Indice d'iode	82,3	81,8	0,6

(d'après P. MONNIER.)

CHAPITRE II

ÉTUDE DES TUMEURS EXPÉRIMENTALES ET DES TUMEURS HUMAINES.

Bien que les tumeurs expérimentales et les tumeurs humaines présentent des différences biologiques profondes, elles ont néanmoins des réactions tissulaires communes dans lesquelles la prolifération exagérée des éléments joue un rôle prédominant et conduit à une superproduction tissulaire persistante avec tendance à l'accroissement ; l'analyse chimique de ces deux sortes de tumeurs et la comparaison des résultats obtenus nous a donc paru devoir être du plus haut intérêt pour l'étude de l'activité proliférative des tissus tumoraux.

I. — Tumeurs expérimentales.

(Epithéliomas atypiques de FLEXNER-JOBLING)

Nos premières recherches ont été effectuées sur des tumeurs de FLEXNER-JOBLING.

CARACTÉRISTIQUES DE LA TUMEUR DE FLEXNER-JOBLING. — Les tumeurs qui ont servi de base à ces quelques expériences ont été obtenues au laboratoire d'Anatomie pathologique du Centre de recherches anticancéreux de Montpellier, par greffes à des rats albinos.

Sans insister sur la technique des greffes qui dépasse le cadre

de ce travail, rappelons seulement que la tumeur de Flexner-Jobling, qui à l'origine était une tumeur glandulaire de la vésicule séminale, est devenue, par suite de fluctuations histologiques au cours de greffes successives, un épithélioma atypique ; c'est ainsi qu'elle fut identifiée dès 1933 par M. le Professeur GRYNFELTT, dans le laboratoire duquel elle est conservée par greffes successives depuis cette date, et a toujours gardé cette fixité histologique.

Ces tumeurs ont été prélevées et analysées un mois environ après la greffe. Leur évolution est, on le sait, très rapide, à telle enseigne que la plupart d'entre elles ont pu atteindre dans cette courte période des poids de 25 à 30 grammes et même, pour certaines, le poids de 70 grammes. Bien que l'on constate des différences notables dans le développement des diverses greffes, la plupart ont une croissance continue, c'est là leur évolution normale ; elles sont alors constituées, du point de vue histologique, de plages cellulaires séparées par des plages de nécrose. Au cours de son développement, la tumeur devient de plus en plus riche en zones de nécrose, et en fin d'évolution, on peut considérer qu'elle est entièrement formée de tissu nécrosé.

*
* * *

Les tumeurs *analysées dans ces premières expériences* étaient en pleine évolution.

RÉSULTAT DE NOS ANALYSES :

Le tableau III résume nos constatations.

TABLEAU III

Tumeurs de Flexner-Jobling.

N° de la tumeur	I	II	IV	V	VI
Poids de la tumeur	4,3814	8,1285	20,5135	27,8912	32,1521
Teneur en eau :					
p. 100 de poids frais	84,8	85,9	84,2	83	82,5
p. 100 de poids frais dégr.	88,9	89,9	90,7	88,9	89,5
Lipides totaux :					
p. 100 de poids frais	2,86	2,22	2,45	3,12	3,07
p. 100 de poids sec	20,47	14,80	15,50	18,12	17,54
Phosphore lipidique :					
p. 100 de poids frais	0,099	0,076	0,087	0,087	0,098
p. 100 de poids sec	0,71	0,50	0,55	0,51	0,56
Phospholipides :					
p. 100 de poids frais	2,475	1,900	2,176	2,175	2,450
p. 100 de poids sec	17,75	12,50	13,75	12,75	14,00
p. 100 de lipides totaux ..	86,7	85,4	88,7	70,4	79,8
Indice d'iode	66	67	66,7	63	64

Sans insister sur le fait déjà signalé (P. CRISTOL, P. MONNIER et J. FOURCADE) (5) de l'énorme teneur en eau de telles tumeurs, nous retiendrons seulement les faits suivants :

1) Le taux des lipides totaux présente de faibles variations d'une tumeur à l'autre; il oscille en effet autour d'une moyenne de 2,74 p. 100 de poids frais, avec des écarts de 0,52 p. 100 en plus ou en moins.

2) L'indice d'iode n'oscille qu'entre 63 et 67. Notons que les indices les plus faibles sont donnés par les tumeurs les plus considérables.

3) Le phosphore lipidique (chiffres extrêmes : 0,076 et 0,099

p. 100 de poids frais) ainsi que les phospholipides (chiffres extrêmes : 1,900 et 2,475 p. 100 de poids frais), varient eux aussi dans des limites étroites.

Constatons ensuite que la teneur en phospholipides pour 100 de lipides totaux augmente progressivement avec l'accroissement de la tumeur pour atteindre son maximum (88,7 p. 100 de lipides totaux) lorsque celle-ci pèse 20 grammes environ. Passé ce stade, en même temps que la tumeur s'accroît d'ailleurs moins rapidement, un processus de nécrose s'amorce et une partie de son tissu est en autolyse, on note alors une diminution des phospholipides.

Des lipides totaux de certaines tumeurs nous avons extrait les phospholipides ; nos résultats résumés dans le tableau IV, confirment les variations précédentes.

TABLEAU IV

Pourcentage en phospholipides.

N° des tumeurs ...	XVIII	XX	XXI	XIX	XVI
Poids des tumeurs (g)	21,892	22,444	26,966	27,181	73,601
Phospholipides (p. 100 de lipid. totaux)	82	81,03	80,04	78,8	76,8

On peut donc conclure que les lipides totaux des tumeurs de Flexner-Jobling sont surtout composés de phospholipides et, par conséquent, de très peu de glycérides.

II. — Tumeurs humaines.

A l'inverse des tumeurs de Flexner-Jobling dont la constitution histologique est nettement individualisée, les tumeurs

humaines présentent des caractères histologiques très divers. De nombreuses analyses chimiques portant sur des tumeurs histologiquement différentes ou à structure complexe, ont été de ce fait entachées d'erreur ; toute recherche dans cet ordre d'idées nous a paru, dès lors, ne pouvoir être faite sans que l'identité et l'homogénéité histologique de la pièce à analyser n'ait été vérifiée par un examen rigoureux.

* *
* *

Les tumeurs que nous allons étudier se divisent en tumeurs mésoenchymateuses (bénignes ou malignes), d'une part, et tumeurs épithéliales malignes d'autre part. Nous avons pu actuellement analyser les tumeurs épithéliales bénignes.

I. TUMEURS MÉSENCHYMATEUSES BÉNIGNES.

A) *Léiomyomes utérins*. — Nous rapportons quelques cas de léiomyomes utérins constitués par une hyperplasie anormale des fibres musculaires lisses de l'utérus. Il est rare en effet que l'hyperplasie porte sur les fibrilles contractiles de ces fibres, le plus souvent ces fibres s'atrophient et c'est le « manchon pellucide » de nature collagène entourant les fibres musculaires lisses qui s'hypertrophie, d'où la dénomination d' « évolution collagène des léiomyomes ».

Nous avons rassemblé nos résultats (1) dans le tableau V.

(1) Nos observations sont numérotées d'après l'ordre dans lequel les tumeurs ont été analysées.

TABLeAU V

Tumeurs mésenchymateuses bénignes. Léiomyomes.

Observation N°	7	8	11	17	20
Eau :					
p. 100 de poids frais	76,5	77,6	80,1	79,4	77,8
p. 100 de poids frais dégr.	79,3	78,9	82,2	83	80,8
Lipides totaux :					
p. 100 de poids frais	1,278	0,546	1,15	2,023	1,717
p. 100 de poids sec	5,432	2,135	5,77	9,811	7,733
Phosphore lipidique :					
p. 100 de poids frais	0,033	0,0108	0,0179	0,545	0,0326
p. 100 de poids sec	0,146	0,0481	0,090	0,2643	0,14683
Phospholipides :					
p. 100 de poids frais	0,825	0,270	0,4475	0,3625	0,8158
p. 100 de poids sec	3,506	1,204	2,246	6,608	0,7367
p. 100 de lipid. totaux....	64,5	49,4	48,9	67,3	47,3
Phosphore hydrosoluble :					
p. 100 de poids frais	0,0164	0,004	0,0021	0,0022	0,0034
p. 100 de poids sec	0,079	0,018	0,0105	0,0106	0,0153
Phosphore extractif :					
p. 100 de poids frais	0,0494	0,0148	0,0208	0,0567	0,036
p. 100 de poids sec	0,225	0,066	0,1005	0,2749	0,16213
Indice d'iode	65,3	68,7	65,09	66,05	67,1

D'après ces résultats, les caractéristiques de ces tumeurs sont les suivantes :

1° La teneur en eau pour 100 de poids sec oscille autour de 78 pour 100, les écarts étant peu importants (de 2,3 p. 100) en plus ou en moins).

2° Le taux des lipides totaux est bas, en général inférieur à 2 g. pour 100 de tissu frais. La moyenne des cas analysés est de 1,343 g. p. 100 de tissu frais, mais les variations d'un cas à l'autre sont importantes. La teneur en lipides est de 0,546 g. dans l'observation n° 8, et de 2,023 g. dans l'observation n° 17.

3° Pour le phosphore lipidique, la moyenne des résultats obtenus est de 0,02976 g. p. 100 de tissu frais. Mais on ne peut pas considérer pour les tumeurs ce phosphore lié aux lipides comme une constante.

4° Les phospholipides ont été calculés d'après le phosphore lipidique et leur taux rapporté pour 100 de poids frais, pour 100 de poids sec, et pour 100 de lipides totaux.

La proportion des phospholipides contenus dans 100 g. de lipides totaux n'est pas fixe, mais elle est toujours élevée sauf dans le cas du myome rouge (observation n° 11) et d'après les résultats obtenus que l'on peut dire que dans ces tumeurs la moitié des lipides est constituée par des lipides phosphorés.

5° L'indice d'iode est relativement constant, il oscille autour de 66.

B) *Tumeurs bénignes du tissu vasculo-conjonctif.* — Nous avons analysé un angiomyxome et un angiofibrome. L'angiomyxome est constitué par une hyperplasie anormale des vaisseaux sanguins et des cellules mésenchymateuses qui conservent la structure rameuse des cellules embryonnaires. La caractéristique de l'angiofibrome étudié est une hyperplasie anormale des vaisseaux sanguins et des cellules conjonctives adultes ou fibroblastes. Dans les tumeurs à myéloplaxes qui sont des angiofibromes de nature inflammatoire, chaque vaisseau sanguin ou lacune sanguine comporte une plage cytoplasmique multinucléée ou myéloplaxe de ROBIN qui n'est autre chose que la pointe d'accroissement du vaisseau.

Bien que ne possédant pas un nombre suffisant de cas pour pouvoir établir du point de vue chimique des faits précis, le tableau VI, où nous avons résumé nos résultats, nous permet cependant de souligner que la teneur en eau de ces deux tumeurs

est élevée, surtout pour l'angiomyxome 90,9 p. 100 (ceci paraît être en relation avec la structure histologique représentée par des cellules embryonnaires).

Pour l'angiomyxome, l'indice d'iode paraît également plus élevé (73,2).

TABLEAU VI

**Tumeurs mésenchymateuses bénignes
du tissu vasculo-conjonctif.**

Observation N°	2 (angiomyxome)	18 (angiofibrome)
Teneur en eau :		
p. 100 de poids frais	90,9	81,3
p. 100 de poids frais dégr.	92,1	85,3
Lipides totaux :		
p. 100 de poids frais	0,625	2,963
p. 100 de poids sec	6,875	15,846
Phosphore lipidique :		
p. 100 de poids frais	0,01095	0,0331
p. 100 de poids sec	0,12045	0,1770
Phospholipides :		
p. 100 de poids frais	0,273775	0,3275
p. 100 de poids sec	3,01125	4,427
p. 100 de lipides totaux.	43,8	27,9
Phosphore hydrosoluble :		
p. 100 de poids frais	0,0029	0,054
p. 100 de poids sec	0,0319	0,288
Phosphore extractif :		
p. 100 de poids frais	0,01385	0,0871
p. 100 de poids sec	0,15235	0,4659
Indice d'iode	73,2	66,8

II. TUMEURS MÉSENCHYMATEUSES MALIGNES.

Nous avons pu analyser un histiosarcome polymorphe (obs. n° 16) ainsi qu'un léiomyosarcome (obs. 27) ; nous rapprocherons de l'observation n° 16 l'analyse d'un ganglion prélevé au niveau du creux de l'aisselle d'une malade atteinte de la maladie de HODGKINGS. L'histiosarcome polymorphe est en effet constitué par une prolifération anarchique et infiltrante d'éléments mésenchymateux souvent de nature histiocytaire et faisant partie du système réticulo-endothélial.

TABLEAU VII

Tumeurs mésenchymateuses malignes.

Observations N°	16	3	27
	histiosarcome polymorphe	système réticulo- endothélial	léiomyo- sarcome
Teneur en eau :			
p. 100 de poids frais	78,1	81,0	80,6
p. 100 de poids frais dé- graissé	83,4	85,9	84,5
Lipides totaux :			
p. 100 de poids frais	4,226	3,369	4,178
p. 100 de poids sec	19,27	17,72	17,38
Phosphore lipidique :			
p. 100 de poids frais	0,0592	0,0646	0,054
p. 100 de poids sec	0,2699	0,3398	0,3096
Phospholipides :			
p. 100 de poids frais	1,48	1,616	1,86
p. 100 de poids sec	6,7488	8,50	7,741
p. 100 de lipid. totaux	35	47,9	44,5
Phosphore hydrosoluble :			
p. 100 de poids frais	0,0411	0,022	0,030
p. 100 de poids sec	0,1874	0,116	0,125
Phosphore extractif .			
p. 100 de poids frais	0,1003	0,0866	0,104
p. 100 de poids sec	0,4573	0,455	0,4346
Indice d'iode	63,44	64,2	66,2

Les analyses nous montrent que la teneur en eau est aux environs de 80 p. 100 de poids frais.

Le taux des lipides totaux et du phosphore lipidique est élevé.

Nos observations étant trop peu nombreuses, nous n'en retiendrons que ces deux faits.

III. TUMEURS ÉPITHÉLIALES MALIGNES.

Nous n'avons pas encore analysé de tumeurs épithéliales bénignes. Nous rapportons dans notre travail l'examen de tumeurs épithéliales malignes seulement, se répartissant comme il suit :

a) quatre tumeurs typiques reproduisant la structure glandulaire du tissu sain au dépens duquel elles se sont développées ;

b) deux tumeurs atypiques qui sont constituées par un squirrhe et un encéphaloïde ;

c) trois tumeurs métatypiques ou mixtes, leur structure étant à la fois typique et atypique.

Nous avons réuni dans le tableau VIII nos résultats (p. 33).

Le taux des lipides de ces tumeurs est toujours très élevé, nettement supérieur à 2 g., et atteint 15 g. dans l'observation n° 1, et 12 g. dans l'observation n° 9 ; mais les variations d'un cas à l'autre sont importantes.

Le phosphore lipidique est élevé ; sa moyenne est de 0,0712 dans les tumeurs atypiques, de 0,0531 dans les tumeurs métatypiques, et de 0,044 dans les tumeurs typiques. Il semble donc que ce taux soit en rapport avec la nature histologique de la tumeur.

TABLEAU VIII

Tumeurs épithéliales malignes.

	typiques				atypiques			métatypiques		
	1	6	9	12	13	21	15	18	19	
Observations										
Eau :										
p. 100 de poids frais	70,8	76,7	77,8	86,8	80,9	72,83	85,7	77,5	74,2	
p. 100 de poids frais dégraissé	84,3	83,1	84,1	89,5	88,2	87,4	89,1	85,4	87,5	
Lipides totaux :										
p. 100 de poids frais	15,02	5,098	4,53	1,455	4,384	13,716	2,204	7,017	12,1822	
p. 100 de poids sec	51,368	21,92	20,401	11,029	22,8978	50,474	15,412	28,068	47,206	
Phosphore lipidique :										
p. 100 de poids frais	traces	0,053	0,044	0,0352	0,0593	0,083	0,0395	0,0671	0,0529	
p. 100 de poids sec		0,228	0,198	0,2668	0,3104	0,3054	0,2972	0,2684	0,2049	
Phospholipides :										
p. 100 de poids frais	traces	1,335	1,10	0,8806	0,482	2,075	0,9875	1,6775	1,3225	
p. 100 de poids sec		5,697	4,955	6,6749	2,323	7,636	6,9055	6,71	5,1246	
p. 100 de lipides totaux	traces	26,00	24,2	60,5	33,8	15,1	44,8	23,90	10,8	
Phosphore hydrosoluble :										
p. 100 de poids frais	traces	0,018	0,031	0,0045	0,0305	0,017	0,013	0,0188	0,0024	
p. 100 de poids sec		0,077	0,139	0,0341	0,1596	0,062	0,0909	0,0752	0,0092	
Phosphore extractif :										
p. 100 de poids frais	traces	0,071	0,075	0,0397	0,0898	0,100	0,0525	0,0859	0,0553	
p. 100 de poids sec		0,305	0,397	0,3009	0,4700	0,3074	0,3671	0,3436	0,2141	
Indice d'iode	77	61,8	65,6	67,04	77,5	75	60,83	72,04	71,16	

TABLEAU IX

Phosphore lipidique des tumeurs épithéliales malignes.

(p. 100 de poids frais)

a) typique	b) atypique	c) métatypique
0,053	0,0593	0,0395
0,044	0,0832	0,0671
0,0352		0,0529
Moyenne : 0,044	0,0712	0,0530

Il ne paraît pas y avoir de différence bien nette entre ces trois sortes de tumeurs, quant à leur teneur en eau et à leur indice d'iode.

III. — Comparaison entre les tumeurs de Flexner-Jobling et les tumeurs humaines.

Nous ne saurions terminer cette étude sur les tumeurs de Flexner-Jobling et les tumeurs humaines sans établir entre elles quelques comparaisons.

Notons rapidement tout d'abord que la teneur en eau ne paraît pas être fonction de la malignité de la tumeur (tableau X), parce que, d'après nos recherches sur les tumeurs humaines, les tumeurs malignes, qu'elles étaient mésoenchymateuses ou épithéliales, se placent entre les léiomyomes et les tumeurs bénignes d'origine vasculo-conjonctive.

Les tumeurs de Flexner-Jobling, par contre, présentent des teneurs en eau nettement plus élevées que les tumeurs humaines.

TABLEAU X

Teneur en eau des tumeurs

(p. 100 de poids frais)

Tumeurs de Flexner- Jobling		Tumeurs humaines				
		mésenchymateuses		épithéliales malignes		
		bénignes	malignes	typiques	atypiq. métatypiq.	
		léiomyome vasc. conj.				
88,9	76,5	90,9	78,1	70,8	80,9	85,7
89,9	75,5	81,3	81,0	76,7	72,83	77,5
90,7	80,1		80,6	77,8		74,2
88,9	79,4			86,8		
89	77,8					

Il ne paraît pas y avoir non plus de différences sensibles entre les indices d'iode de ces diverses tumeurs.

TABLEAU XI

Indice d'iode des tumeurs.

Tumeurs de Flexner- Jobling		Tumeurs humaines				
		mésenchymateuses		épithéliales malignes		
		bénignes	malignes	typiques	atypiq. métatypiq.	
		léio- myome	vasc. conj.			
66	65,3	73,2	63,44	77	77,5	60,83
67	68,7	66,8	64,2	61,8	75	72,04
66,7	65,09		66,2	65,6		71,16
63	66,05			67,04		
64	67,1					

Les constatations les plus intéressantes sont fournies par les pourcentages comparés des lipides totaux, phosphore lipidique et des phospholipides.

Pour les tumeurs humaines, le taux des lipides totaux est nettement plus élevé dans les tumeurs malignes que dans les tumeurs bénignes. Cette augmentation est importante puisque, d'après les moyennes obtenues (tableau XII), leur taux est plus du double de celui calculé à partir des tumeurs bénignes.

Pour les tumeurs de Flexner-Jobling, il ressort de nos résultats que leur teneur en lipides totaux est comprise entre celle des tumeurs bénignes et des tumeurs malignes humaines.

TABLEAU XII
Lipides totaux des tumeurs
(p. 100 de poids frais)

Tumeurs de Flexner- Jobling	Tumeurs humaines					
	mésenchymateuses			épithéliales malignes		
	bénignes		malignes	typiques	atypiq.	métatypiq.
	léio- myome	conj. vasc.				
2,86	1,278	0,625	4,226	15,02	4,384	2,204
2,22	0,546	2,962	3,369	5,098	13,716	7,017
2,45	1,150		4,178	4,53		12,1822
3,12	2,023			1,455		
3,07	1,717					
moyennes :						
2,74	1,342	1,793	3,924	6,2525	9,05	7,1344

Le phosphore lipidique est nettement plus élevé dans les tumeurs humaines malignes que dans les tumeurs bénignes. Mais les résultats les plus élevés sont obtenus non pour des tumeurs humaines, mais pour les tumeurs de Flexner-Jobling. — Rappelons d'autre part ainsi que, nous l'avons déjà noté (1), pour

(1) Voir chap. I^{er}, page 26.

ces dernières tumeurs le pourcentage en phospholipides par rapport aux lipides totaux est extrêmement élevé. (Valeurs extrêmes : 70,4-88,7 p. 100 de lipides totaux.

TABLEAU XIII

Phosphore lipidique des tumeurs

(p. 100 de poids frais)

Tumeur		Tumeurs humaines					
		mésenchymateuses		épithéliales malignes *			
		bénignes		malignes	typiques atypiq.		métatypiq.
		léio- myome	conj. vasc.				
de Flexner- Jobling	0,099	0,033	0,010	0,059	traces	0,0593	0,0395
	0,076	0,010	0,033	0,064	0,053	0,0832	0,0671
	0,087	0,017		0,054	0,044		0,0529
	0,087	0,054			0,0352		
	0,098	0,032					
moyennes :							
	0,089	0,029	0,021	0,059	0,044	0,0712	0,0530

De tels résultats montrent le parallélisme qui existe entre la teneur en phospholipides et le pouvoir proliférant des cellules cancéreuses. Cela confirme indirectement les travaux de P. CRISTOL (3) sur la teneur en zinc des cancers et le rôle de cet élément dans la croissance des tumeurs, les travaux de DELEZENNE (10) ayant mis en évidence le parallélisme qui existe entre la teneur en zinc des venins de serpents et l'hydrolyse des phospholipides et des acides nucléiques.

L'index phosphatidique des tumeurs nous paraît donc mesurer la malignité de celles-ci, au moins en ce qui concerne la rapidité de leur croissance.



CHAPITRE III

COMPARAISON ENTRE LES DIFFÉRENTES PARTIES D'UNE MÊME TUMEUR D'ASPECTS HISTOLOGIQUES DIVERS.

Les tumeurs analysées présentaient quelques fois deux zones d'aspect microscopique différent.

L'examen histologique nous a permis de constater deux ordres de faits :

1) Dans certains cas, une partie en voie de développement et une zone nécrosée se trouvaient réunies sur la même pièce.

2) Certaines tumeurs présentaient d'autre part deux territoires nettement distincts par l'intensité de leur malignité.

L'analyse comparative de ces différentes parties d'une même tumeur n'a pu évidemment être faite que sur les tumeurs humaines, dans les tumeurs de Flexner-Jobling les plages de nécrose étant intimement liées aux plages cellulaires.

I. — Tumeurs présentant des zones de nécrose.

Dans l'observation n° 2, la partie active réalisait l'aspect histologique d'un angiomyxome, tandis que l'autre fragment était constitué par un tissu en dégénérescence nécrotique si avancée que l'examen anatomo-pathologique était quasi- impossible.

L'examen de la tumeur n° 12, qui a porté aussi sur deux fragments, nous montre que le premier morceau (partie active) était un épithélioma germinatif cylindrique de l'ovaire ; l'analyse du second indique qu'on se trouve en présence d'un tissu de nécrose totale dans lequel il est impossible d'identifier histologiquement une structure cellulaire.

Dans l'expérience n° 26 la partie active répondait à un épithélioma cylindrique de l'utérus, l'analyse de la seconde partie de la tumeur était rendue impossible du fait de sa dégénérescence nécrotique avancée.

II. — Tumeurs présentant des territoires distincts par l'intensité de leur malignité.

Il ne s'agit plus, dans la tumeur n° 16, d'une partie en voie de développement et d'une partie nécrosée, mais d'un tissu lâché présentant une prolifération très active d'éléments mésenchymateux, tandis que le tissu d'aspect cruorique offre une malignité histologique bien moindre.

La tumeur n° 27 présentait un noyau central ayant la structure histologique du léiomyosarcome, et un noyau périphérique d'aspect fibromateux.

III. — Résultat de nos analyses.

L'analyse chimique des différentes parties de ces tumeurs nous a permis de constater trois faits intéressants :

1° Le phosphore lipidique pour 100 de tissu frais est toujours nettement diminué dans la partie nécrosée ou présentant une malignité moindre. Il en résulte naturellement une baisse de phospholipides.

TABLÉAU XIV

Observations	Phosphore lipidique p. 100 de poids frais		Phospholipides p. 100 de poids frais	
	partie active	partie nécrosée	partie active	partie nécrosée
N° 2	0,010	0,010	0,27375	0,258
N° 12	0,035	0,023	0,8806	0,595
N° 26	0,041	0,026	0,997	0,644
	tissu lardacé	tissu aspect cruorique	tissu lardacé	tissu aspect cruorique
N° 16	0,059	0,023	1,48	0,5925
	tissu sarcomateux	tissu fibromateux	tissu sarcomateux	tissu fibromateux
N° 27	0,074	0,047	1,86	1,17

2° Le taux des phospholipides de la zone nécrosée ou présentant une malignité moindre, calculé non plus pour 100 g. de tissu frais, mais rapporté à 100 g. de lipides totaux, est abaissé dans de fortes proportions par rapport aux phospholipides dans la partie en voie de développement.

TABLÉAU XV

Phospholipides, p. 100 de lipides totaux

Observations	partie active	partie nécrosée
N° 2	43,8	29,7
N° 12	60,5	34,1
N° 26	29,8	20,1
	tissu lardacé	tissu à aspect cruorique
N° 16	35	26,8
	tissu sarcomateux	tissu fibromateux
N° 27	44,5	37,4

3° Tandis que le phosphore lipidique diminue, le phosphore extractif hydrosoluble augmente dans la zone nécrosée. Cette augmentation est peut-être le témoin de l'hydrolyse des phospholipides.

TABLEAU XVI

Observations	Phosphore lipidique		Phosphore hydrosoluble	
	p. 100 de poids frais		p. 100 de poids frais	
	partie active	partie nécrosée	partie active	partie nécrosée
N° 2	0,01095	0,01032	0,0029	0,005
N° 12	0,0352	0,0238	0,0045	0,0339
N° 26	0,041	0,026	0,023	0,041
	tissu lardacé	tissu aspect cruorique	tissu lardacé	tissu aspect cruorique
N° 16	0,0592	0,0237	0,0411	0,2257
	tissu sarcomateux	tissu fibromateux	tissu sarcomateux	tissu fibromateux
N° 27	0,074	0,047	0,030	0,040

Ces résultats sont à rapprocher de ceux obtenus par ARTOM (1) sur l'autolyse aseptique du foie de chiens normaux.

Au cours de l'autolyse aseptique, les phosphatides diminuent constamment (la diminution moyenne est après 20 heures de 23,7 p. 100) ; cette phosphatidolyse est essentiellement représentée par un clivage intégral de la molécule avec libération totale de ses acides gras.

CHAPITRE IV

COMPARAISON ENTRE LE TISSU NÉOPLASIQUE ET LE TISSU SAIN AUX DÉPENS DUQUEL S'EST DÉVELOPPÉE LA TUMEUR

Dans certains cas nous avons pu prélever en même temps que la partie néoplasique, le tissu sain (ou présentant des lésions peu importantes), aux dépens duquel s'était développée la tumeur. L'analyse chimique de ces deux fragments nous a permis de faire quelques constatations importantes montrant les différences qui existent entre les deux tissus (l'un sain, l'autre lésé). Cette étude présente un intérêt qu'il est inutile de souligner. Il est préférable, en effet, de pratiquer les analyses sur des prélèvements effectués au niveau de la même pièce, plutôt que d'établir la comparaison entre les tumeurs et les tissus sains provenant d'un autre sujet.

Il faut considérer deux catégories de lipides : l'élément constant vraisemblablement constitué uniquement par l'ensemble des phosphatides et des stérides, et l'élément inconstant représenté par des lipides de réserve, formés par des glycérides. Le taux des lipides totaux qui représente la somme de ces deux catégories de matière grasse dépend de l'état du sujet et de l'importance de ces graisses de réserve. La comparaison des résultats obtenus sur des tissus prélevés chez deux sujets différents ne signifie absolument rien.

Il semble au contraire, d'après les recherches de TERROINE (26), et de MAYER et SCHAEFFER (16), que le phosphore lipidique exprimé par rapport au poids humide définit presque l'espèce cellulaire considérée. Pour le phosphore lipidique, la comparaison des résultats fournis par les analyses de la tumeur avec ceux donnés par l'examen du tissu sain d'un sujet différent paraît légitime. Nous notons cependant dans les conclusions de MAYER et SCHAEFFER :

1^o La phrase suivante :

« Chez différents individus de même espèce, la teneur en phosphore lipidique d'un organe donné oscille relativement peu autour d'une moyenne. »

2^o Les chiffres suivants :

TABLEAU XVII

Suralimentation protéique et hydrocarburée	0,94
Suralimentation grasse	0,82
Suralimentation en phosphatides	1,33

(d'après MAYER et SCHAEFFER.)

Les écarts sont peu importants, puisqu'ils sont inférieurs à 10 p. 100. Les travaux de ces auteurs notent que des variations de 10 p. 100 du phosphore lipidique sont considérées comme normales ; il en résulte que ces variations ne peuvent être retenues lorsqu'on établit la comparaison entre le tissu sain et le tissu cancéreux prélevé chez deux individus différents.

Ayant rappelé les travaux de ces auteurs, nous allons étudier les résultats obtenus :

1^o Nous n'avons pas trouvé d'enrichissement en eau dans la partie lésée, par rapport au taux de celle-ci dans le tissu sain. Les variations, quand elles existent, sont peu importantes ; dans certains cas, la tumeur est plus riche en eau ; dans d'autres cas c'est le contraire, la partie ne présentant pas de lésion a une teneur en eau plus élevée.

TABLEAU XVIII

Teneur en eau.

Observations	p. 100 de poids frais		p. 100 de poids frais dégraissé	
	Partie tumorale	Partie saine	Partie tumorale	Partie saine
N° 6	76,7	75,8	83,1	86,08
N° 9	77,8	76,9	84,1	83,6
N° 11	74,2	79,3	78,6	82,7
N° 17	79,4	77,6	83,00	80,4
N° 18	77,5	77,2	85,4	90,2
N° 19	74,2	77,5	87,5	88,5
N° 20	77,8	75,7	80,8	78,8

2° Le phosphore lipidique est dans presque tous les cas nettement plus élevé dans la partie tumorale que dans la partie saine. (Sur sept cas, nous avons eu une seule exception pour l'observation n° 6.)

La moyenne du taux du phosphore lipidique est de 0,048 p. 100 de poids frais dans la partie tumorale, et de 0,032 p. 100 de poids frais dans la partie saine. (L'augmentation est de 50 p. 100.)

TABLEAU XIX

Phosphore lipidique.

Observations	p. 100 de poids frais		p. 100 de poids sec	
	Partie tumorale	Partie saine	Partie tumorale	Partie saine
N° 6	0,053	0,071	0,228	0,293
N° 9	0,044	0,0345	0,188	0,1494
N° 11	0,0321	0,0158	0,1243	0,0763
N° 17	0,0545	0,0314	0,2643	0,1261
N° 18	0,0671	0,0029	0,2684	0,0237
N° 19	0,0529	0,0417	0,2049	0,1668
N° 20	0,0336	0,0303	0,1468	0,1246
moyenne :	0,048	0,032		

3° Les tumeurs sont plus riches en phospholipides que les organes aux dépens desquels elles se sont développées.

TABLEAU XX

Phospholipides.

Observations	p. 100 de poids frais		p. 100 de poids sec	
	Partie tumorale	Partie saine	Partie tumorale	Partie saine
N° 6	1,325	1,775	5,697	7,334
N° 9	1,10	0,863	4,955	3,7393
N° 11	0,8025	0,3950	3,1096	1,9078
N° 17	1,3625	0,785	6,608	3,1541
N° 18	1,6775	0,0735	6,71	0,322
N° 19	1,3225	1,0425	5,1246	4,1700
N° 20	0,8150	0,758	0,7367	3,119

Pour les lipides totaux, nous ne trouvons pas les mêmes relations ; les variations sont très importantes et il est impossible d'en préciser le sens.

4° La proportion de phospholipides pour 100 de lipides totaux est toujours plus élevée dans les tumeurs. (La moyenne pour les tumeurs est de 31,6 p. 100 alors qu'elle n'est que de 22,4 p. 100 dans le tissu sain.) Malgré les variations des lipides totaux les graisses tumorales sont toujours beaucoup plus riches en lipides phosphorés. (Voir tableau XXI.)

5° L'indice d'iode est toujours plus bas dans le tissu tumoral que dans le tissu sain. (Voir tableau XXII.)

TABLEAU XXI

Phospholipides.

Observations	p. 100 de lipides totaux	
	Partie tumorale	Partie saine
N ^o 6	26	18,3
N ^o 9	24,2	15,7
N ^o 11	22,5	20,9
N ^o 17	67,3	57,1
N ^o 18	23,90	0,60
N ^o 19	10,8	10,1
N ^o 20	47,5	34
Moyennes :	31,6	22,4

TABLEAU XXII

Indice d'iode.

Observations	Indice d'iode	
	Partie tumorale	Partie saine
N ^o 6	61,8	64,7
N ^o 9	65,6	74,7
N ^o 11	63,13	68,21
N ^o 17	66,05	68,18
N ^o 18	72,04	78,17
N ^o 19	71,16	74,20
N ^o 20	67,1	67,9

CONCLUSIONS

Les résultats de ces quelques recherches sur la constitution lipidique des tumeurs nous permettent d'énoncer les conclusions suivantes qui paraissent se dégager de notre étude :

I. LIPIDES TOTAUX.

A. — Dans les tumeurs humaines les lipides totaux sont plus élevés dans les tumeurs malignes que dans les tumeurs bénignes.

B. — Les tumeurs expérimentales de Flexner-Jobling en pleine évolution ont une teneur en lipides totaux subissant des variations minimales et comprises entre celles des tumeurs bénignes et des tumeurs malignes humaines.

II — PHOSPHORE LIPIDIQUE.

A. — Le phosphore lipidique est plus élevé dans les tumeurs expérimentales que dans les tumeurs humaines.

B. — Le phosphore lipidique des tumeurs humaines est plus élevé :

- a) dans les tumeurs malignes que dans les tumeurs bénignes ;
- b) dans la partie active que dans la zone nécrosée de la même tumeur ;
- c) dans le tissu lésé que dans le tissu sain aux dépens duquel s'est développée la tumeur.

III. — LE POURCENTAGE DES PHOSPHOLIPIDES PAR RAPPORT AUX LIPIDES TOTAUX est beaucoup plus élevé :

- a)* dans les tumeurs expérimentales de Flexner-Jobling que dans les tissus humains ;
 - b)* dans les tissus tumoraux que dans les tissus sains aux dépens duquel ils se sont développés ;
 - c)* dans les tissus en pleine activité que dans les tissus nécrosés.
-

BIBLIOGRAPHIE

1. ARTOM. — Sur la teneur comparée en substances grasses et lipoïdes du foie de chiens normaux et dépancréatés. (*Bull. de la Soc. de Chim. biol.*, 1923, t. 5, nr 10, pp. 872-887.)
2. BURGHEIM (F.). — Rapports entre le cancer et le métabolisme lipoïdique. (*Congrès du Cancer*, Wiesbaden, avril 1928.)
3. CRISTOL (P.). — Contribution à l'étude de la physiopathologie du zinc et en particulier de sa signification dans les tumeurs. (*Thèse médecine*, Montpellier, 1922.)
4. CRISTOL (P.) et MONNIER (Pierre). — Action de la lumière solaire sur l'indice d'iode des lipides totaux, des acides gras phosphatidiques, en solution chloroformique. (*Soc. Chim. de France*, 1938, 5^e série, t. V, fasc. 4, pp. 368-369.)
5. CRISTOL (P.), MONNIER (Pierre) et FOURCADE (J.). — Sur les lipides des tumeurs et des organes cancéreux. (*Montpellier Médical*, juin 1938, n° 6.)
6. CRISTOL (P.), MONNIER (Pierre) et LAZERGES (P.). — Sur les lipides des tumeurs humaines de nature histologique diverse. (*Bull. de la Soc. chimique de France*, 1938, t. V, 5^e série, fasc. 12, p. 1621.)
7. CRISTOL (P.), MONNIER (Pierre) et LAZERGES (P.). — Sur les lipides des tissus néoplasiques et des tissus sains aux dépens desquels se développent les tumeurs. (*Bull. de la Soc. chimique de France*, 1938, t. V, 5^e série, fasc. 12, p. 1622.)
8. CRISTOL (P.), MONNIER (Pierre) et LAZERGES (P.). — Sur certains constituants des lipides des tumeurs expérimentales de FLEXNER-JOBLING du rat. (*Compte rendu à la Soc. chimique de France, section de Montpellier*, séance du 8 juillet 1939.)

9. CRISTOL (P.), MONNIER (Pierre) et LAZERGES (P.). — Sur les coefficients lipidiques des lipides extraits des tumeurs de FLEXNER-JOBLING du rat. (*Compte rendu à la Soc. chimique de France, section de Montpellier*, séance du 8 juillet 1939.)
10. a) DELEZENNE (C.). — Le zinc, constituant cellulaire de l'organisme animal. (*Annales de l'Institut Pasteur*, n° 2, t. 33, 1919.)
b) DELEZENNE (C.). — Le zinc, constituant cellulaire de l'organisme animal. (*Thèse doctorat Sciences naturelles*, Paris, 1919.)
11. ENSELME (M. et Mme). — La chimie du tissu cancéreux. (*Acad. de Méd.*, Paris, 30 mai 1927.)
12. FLATTER (M.). — Étude d'une méthode de microdosage du phosphore lipoïdique. (*Bull. Soc. Chim. biol.*, 1933, t. 15, n° 5, pp. 607-622.)
13. GOLDMANN (E.). — La sécrétion interne et externe de l'organisme sain et de l'organisme malade, étudiée à l'aide de la coloration vitale. (*Beitr. z. Klin. Chir.*, t. 78, fasc. I, 1912.)
14. HAGA (I.). — Statistischer Beitrag über das Auftreten von Fett und Myelin in Geschwülsten. (*Berl. Medizin. Wochschr.*, n° 8, 1912.)
15. MACHEBOEUF (M.). — Recherches sur les composés phosphorés de sang normal. (*Thèse de doctorat en médecine*, Paris, 1927, n° 120.)
16. MAYER et SCHAEFFER. — Recherches sur la teneur des tissus en lipoides ; existence possible d'une constante lipocyttique. (*Journ. de Phys. et Path. gén.*, t. 20, pp. 510, 534, 774, 984, 1913.)
17. MONNIER (Paul). — Étude qualitative et quantitative des lipides dans les cancers expérimentaux (épithéliomas atypiques de FLEXNER-JOBLING). (*Thèse de médecine*, Montpellier, 1939.)
18. MONNIER (Pierre). — Justification des méthodes de dosage des lipides totaux et de leurs constituants sur de minimes quantités de tissus. (*C. R. Soc. Biol.*, 1937, 7, 124, p. 1138.)
19. MONNIER (Pierre). — Action de l'insuline sur les lipides du foie chez le chien normal et chez le chien dépancréaté. (*Thèse sciences*, Montpellier, 1939.)

20. MONNIER (Pierre) et LAZERGES (P.). — Étude qualitative et quantitative des lipides dans les tumeurs humaines. (*Archives de la Soc. des Sc. méd. et biol. de Montpellier et du Languedoc méditerranéen*, 1938, t. 16, fasc. 11, pp. 543-586.)
21. ROBIN (A.). — Recherches sur la composition chimique du cancer du foie. Les principes inorganiques. (*Bull. Acad. de Méd.*, 1913, t. 69, 3^e série.)
22. ROFFO (A.-H.). — a) Diagnostico biologico del cancer. Cancer experimental. Immunitad. (*Rapport officiel à la 1^{re} Conférence Sud-Américaine de Microbiologie et d'Hygiène*, 1916.)
b) La colessterina en los tumores malignos. (*Mém. de l'Inst. de Méd. exp.*, Buenos-Ayres, 27 déc. 1923 ; *Bull. Ass. fr. pour l'étude du cancer*, 16 juin 1924.)
c) Lesiones precancerosas y cancerosas definidas y su relacion con la colessterina. (*Bull. Inst. Méd. exp.*, n^o 10, janvier 1926.)
d) Les lipoides dans la nutrition et le développement des tumeurs. (*Les Néoplasmes*, 1930, t. 9, p. 257.)
23. ROFFO (A.-H.) et THOMAS (J.). — La chimie du cancer. (Vigot frères, Editeurs, Paris, 1933.)
24. ROSENMUND (K.W.) et KUHNHENN (W.). — Eine neue Methode zur Jodzählbestimmung in Fetten und Ölen unter Verwendung von Pyridinsulfatdibromid. (*Zeitschr. für Untersuch. der Nahrungs- und Genussmittel*, 1923, t. 46, II, pp. 154-159.)
25. a) ROUSSY (G.). — Nouveau traité de médecine. (Fasc. 5, t. 2, *Le Cancer*. Masson et Cie, Editeurs, 1929.)
b) ROUSSY (G.). — Le Cancer. (1 vol., Librairie Armand Colin, éditeurs, Paris, 1939.)
26. TERROINE (E.-F.). — Sur la teneur du sang en eau. (*C. R. Soc. Biol.*, 3 avril 1914.)
27. TERROINE (E.-F.) et WEILL (J.). — Indices lipocytiques au cours d'états physiologiques variés. (*Journ. de Phvs. et Pathol. gén.*, t. 15, p. 549.)
28. YAMAKAWA (S.) et KASHIWABARA (M.). — Des rapports entre la lipodémie et le développement du xanthome. (*The Tohoku Journ. of exp. Med.*, déc. 1922, t. 3, n^{os} 5 et 6.)
29. YASUDA. — The determination of the iodine number of lipids. (*Journ. of Biol. Chem.*, 1931, t. 94, p. 401.)

TABLE DES MATIÈRES

Introduction	9
Travaux antérieurs	11

CHAPITRE PREMIER

I. Objet et plan du travail	15
II. Techniques et méthodes	17
III. Justification des méthodes	22

CHAPITRE II

Etude des tumeurs expérimentales et des tumeurs humaines ...	23
I. Tumeurs expérimentales	23
II. Tumeurs humaines	26
III. Comparaison entre les tumeurs expérimentales et les tumeurs humaines	34

CHAPITRE III

Comparaison entre les différentes parties d'une même tumeur d'aspect histologique divers	39
---	----

CHAPITRE IV

Comparaison entre le tissu néoplasique et le tissu sain aux dépens duquel s'est développée la tumeur	43
Conclusions	49
Bibliographie	51

SERMENT

En présence des Maîtres de cette Ecole, de mes chers condisciples et devant l'effigie d'Hippocrate, je promets et je jure, au nom de l'Etre suprême, d'être fidèle aux lois de l'honneur et de la probité dans l'exercice de la Médecine. Je donnerai mes soins gratuits à l'indigent, et n'exigerai jamais un salaire au-dessus de mon travail. Admis dans l'intérieur des maisons, mes yeux ne verront pas ce qui s'y passe ; ma langue laira les secrets qui me seront confiés et mon état ne servira pas à corrompre les mœurs ni à favoriser le crime. Respectueux et reconnaissant envers mes Maîtres, je rendrai à leurs enfants l'instruction que j'ai reçue de leurs pères.

Que les hommes m'accordent leur estime si je reste fidèle à mes promesses ! Que je sois couvert d'opprobre et méprisé de mes confrères si j'y manque !

En ma qualité de censeur de
tour j'ai lu la Thèse ayant pour
titre :

Sur les lipides totaux et les phospholipides des tumeurs.

par Pierre LAZERGES

Je pense que la Faculté peut en
permettre l'impression.

Montpellier, le 24 Novembre 1939.

Le Professeur,
CRISTOL.

Vu :

Montpellier, le 30 Novembre 1939.

Le Doyen,
EUZIÈRE.

VU ET PERMIS D'IMPRIMER :

Montpellier, le 30 Novembre 1939.

Le Recteur,
PARISELLE.

